

UNTERSUCHUNGEN ÜBER DIE WIRKUNG
VON NIKOTIN
AUF DIE PLASMAKONZENTRATION
VON ALDOSTERON
UND CORTICOSTERON SOWIE
DIE ELEKTROLYTAUSSCHEIDUNG
IM URIN VON RATTEN

Tilman M. Fischbach

1982

DISSERTATIONS - UND FOTODRUCK FRANK GmbH
8000 München 2, Gabelsbergerstraße 15, Tel. 2809090

Aus dem Physiologischen Institut
der Universität München

Vorstand: Professor Dr. med. K. Thureau
Professor Dr. med. E. Gerlach
Professor Dr. med. G. ten Bruggencate

UNTERSUCHUNGEN ÜBER DIE WIRKUNG VON NIKOTIN
AUF DIE PLASMAKONZENTRATION VON ALDOSTERON
UND CORTICOSTERON SOWIE DIE ELEKTROLYTAUS-
SCHEIDUNG IM URIN VON RATTEN

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
an der Ludwig-Maximilians-Universität in München

vorgelegt von

TILMAN M. FISCHBACH

aus

FRIEDRICHSHAFEN

1981

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Professor Dr. K. Thureau

Dekan: Professor Dr. W. Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 14. Januar 1982



Inhaltsverzeichnis

	<u>Seite</u>
1. <u>Einleitung</u>	1
2. <u>Methoden</u>	
2.1 <u>Tiere</u>	3
2.2 <u>Material</u>	6
2.3 <u>Durchführung der Bestimmungen</u>	8
2.4 <u>Radioimmunoassay (RIA)</u>	10
2.5 <u>Kritik der Methode</u>	11
2.6 <u>Statistische Auswertung der Ergebnisse</u>	15
3. <u>Ergebnisse</u>	
3.1 <u>Aldosteron und Corticosteron (Plasma)</u>	16
3.2 <u>Elektrolyte und Osmolalität (Urin)</u>	19
3.3 <u>Urinvolumen und -pH</u>	26
3.4 <u>Aufgenommenes Wasser und Futter</u>	29
4. <u>Diskussion</u>	34
5. <u>Zusammenfassung</u>	39
6. <u>Schrifttumsverzeichnis</u>	40

1. Einleitung

Im Rahmen der Bedeutung des Nikotins für die Pathogenese kardiovaskulärer Erkrankungen scheinen die Auswirkungen dieses Tabakalkaloids auf den Elektrolythaushalt und dessen endokriner Kontrolle, vor allem durch NNR-Hormone, von besonderem Interesse.

Zeigt sich doch z. B. beim Cushing- wie beim Conn-Syndrom, welche folgenschwere Konsequenzen für das kardiovaskuläre System bei Störungen des Elektrolyt- und Flüssigkeitshaushaltes sowie der regulierenden NNR-Hormonsekretion entstehen können.

Trotz vieler Untersuchungen (1, 2, 3, 7, 12, 20) gelang es jedoch nicht, Nachweise für direkte, kardiovaskuläre Erkrankungen verursachende Nikotinwirkungen zu erbringen.

Bei den häufiger untersuchten Glucocorticoiden weisen die meisten Angaben auf eine Erhöhung dieser Steroide unter Nikotinbelastung hin. So beobachteten Balfour *et al* (3) bei männlichen, nichtgestressten Sprague-Dawley Ratten (Durchschnittsgewicht 200 g) nach einmaliger s.c. Nikotininjektion ($0,4 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \text{KG} \cong 1,0 \text{ ml} \cdot \text{kg}^{-1}$) einen 60 min. anhaltenden, signifikanten ($p < 0,01$) Anstieg des Plasmacorticosterons.

Sie waren damit in Übereinstimmung mit Kershbaum *et al* (12), die bei männlichen, durchschnittlich 200 g schweren Sprague-Dawley Ratten, 30 min. nach einmaliger i.p. Nikotininjektion ($0,5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \text{KG}$) signifikant ($p < 0,05$) erhöhte 11-Hydroxycorticosteroide fanden.

Im Gegensatz dazu ist über den Zusammenhang zwischen Nikotin und dem Hauptmineralcorticoid Aldosteron nur sehr wenig bekannt. Heck *et al* (8) berichteten 1978 über Versuche an Ratten mit Nikotin und Zigarettenrauch. Je nach Dauer der Versuche und Konzentration bzw. Galenik des verabreichten Nikotins zeigten sich unterschiedliche Wirkungen auf Plasmakonzentrationen von Aldosteron und Corticosteron, jedoch mit der Tendenz für erniedrigte Steroidwerte.

Es lag daher nahe, eingehend zu untersuchen, ob im Hinblick auf Rauchen und Erkrankungen des kardiovaskulären Systems, das pathophysiologisch-pathogenetische Potential des Nikotins über Veränderungen der endokrinen NNR-Aktivität und der Elektrolytausscheidung zur Wirkung kommt.

Die Möglichkeit einer hypophysären Steuerung der nikotinbedingten Beeinflussung der Aldosteron-Plasmakonzentration wurde durch Behandlung der Versuchstiere mit Decadronphosphat untersucht.

So wird im folgenden berichtet über die Wirkung von stündlich s.c. verabreichtem Nikotin auf die Konzentration von Aldosteron und Corticosteron im Plasma von Ratten, die Konzentration von Natrium, Kalium und Chlorid im ausgeschiedenen Urin, dessen Osmolalität und pH sowie aufgenommene Wassermenge und Futtermenge über einen Zeitraum von 12 Stunden.

Ausserdem erfolgt eine Gegenüberstellung von diesen Kurzzeit-Untersuchungen und Versuchen, die unter vergleichbaren Bedingungen und über Zeiträume von mehreren Wochen durchgeführt wurden.

2. Methoden

2.1 Tiere

Als Versuchstiere wurden weisse, männliche Laborratten Ch bb der Firma Thomae verwendet. Sie wurden unter konstanten Bedingungen in Gemeinschaftskäfigen zu jeweils 5 Tieren gehalten und erhielten Altromin Standard-Diät sowie Wasser ad libitum.

Eine Eingewöhnungszeit von mindestens 48 Stunden, die gleichzeitig als Kontrolle der jeweiligen Versuchsgruppe ohne Injektionen (= "Selbstkontrolle") diente, sowie eine Versuchsdauer von 12 Stunden verbrachten die Ratten einzeln in Stoffwechselkäfigen aus nichtrostendem Stahl. Dabei hatten die Tiere freien Zugang zu Futter und Wasser.

Der Urin wurde, getrennt von Faeces und Nahrungsresten, in Polyäthylenfläschchen gesammelt, zentrifugiert und bei -60°C eingefroren. Daraus wurde später nach Auftauen im Kühlschrank Osmolalität und pH sowie Natrium, Kalium und Chlorid bestimmt.

Das Körpergewicht (KG) der Tiere wurde jeweils vor und nach "Selbstkontrolle" bzw. Versuch registriert. Ausserdem wurden Gewicht des aufgenommenen Wassers und Futters sowie Menge des ausgeschiedenen Urins gemessen.

Es wurden 4 Versuchsgruppen zu jeweils 10 Tieren gebildet:

Gruppe 1 (Nikotin-Gruppe)

Diese Tiere erhielten während der Versuchsdauer (12 h) stündlich $0,5 \text{ mg.kg}^{-1}\text{KG}$ Nikotin in isotoner NaCl-Lösung s.c. injiziert. Injiziertes Volumen $0,5 \text{ ml.kg}^{-1}\text{KG}$.

Gruppe 2 (NaCl-Gruppe)

Die Tiere dieser Gruppe bildeten die Kontrolltiere der Gruppe 1.

Sie erhielten stündliche s.c.-Injektionen von $0,5 \text{ ml.kg}^{-1}\text{KG}$ isotoner NaCl-Lösung.

Gruppe 3 (Decadron + Nikotin-Gruppe)

4 Wochen vor Versuchsbeginn wurde diesen Tieren zweimal wöchentlich $0,5 \text{ µg}$ Decadronphosphat i.p. appliziert ($0,5 \text{ ml.kg}^{-1}\text{KG}$). Die letzte Decadroninjektion erfolgte 12 Stunden vor Versuchsbeginn. Für die Dauer des Versuchs wurde dann stündlich $0,5 \text{ mg.kg}^{-1}\text{KG}$ Nikotin in isotoner NaCl-Lösung s.c. injiziert ($0,5 \text{ ml.kg}^{-1}\text{KG}$).

Gruppe 4 (Decadron + NaCl-Gruppe)

Diese Tiere waren die Kontrolltiere der Gruppe 3 und erhielten genau die gleichen Decadronphosphatinjektionen i.p. Während der Versuche wurde ihnen dann stündlich $0,5 \text{ ml.kg}^{-1}\text{KG}$ isotone NaCl-Lösung s.c. appliziert.

Das Gewichtsverhalten der einzelnen Tiere sowie der Gruppen untereinander war, bedingt durch die kurze Versuchsdauer, keinen signifikanten Schwankungen unterworfen. Das Gewicht sämtlicher verwendeter Tiere lag zwischen 200 und 250 g bei Beendigung des jeweiligen Versuchs durch Dekapitation.

2.2 Material

Lösungsmittel wie Aethanol, Methanol und Dichlormethan wurden in p.a.-Qualität von Merck, Darmstadt, bezogen. Ebenso 1-Nikotin reinst, DAB 6, das in Ampullen unter N_2 -Atmosphäre aufbewahrt wurde.

Aldocorten stammte von CIBA, Decadronphosphat von MSD, Corticosteron von Schering und Beriglobin von Behring.

Die Tracer $[1,2,6,7 - ^3H] - Aldosteron$ und $[1,2,6,7 - ^3H] - Corticosteron$ besaßen eine spezifische Aktivität von $90 - 105 \text{ Ci. mmol}^{-1}$ ($= 1,47 - 1,67 \text{ pg. } 1000 \text{ dpm}^{-1}$). Die ausreichend stabilen, sog. hyperaktiven 3H -Steroide wurden vor Gebrauch bzw. mindestens einmal monatlich säulenchromatographisch gereinigt.

Der für die Bindungsfähigkeit der verwendeten Antikörper optimale $0,05 \text{ M}$ Borat-Beriglobin-Puffer wies folgende Zusammensetzung auf (15, 20):

6,184 g $H_3 BO_3$

7,456 g KCl

78 ml $0.1N \text{ NaOH}$

650 mg NaN_3

1,2 g Beriglobin

Aqua dest. ad 2000 ml

Die Bedeutung des zugesetzten humanen Gamma-Globulins besteht darin, dass Steroide und AK in Lösung gehalten und wesentlich weniger von der Gefäßwand absorbiert werden (6).

Sämtliche verwendeten Chemikalien wurden von Merck geliefert und besaßen p.a.-Qualität.

Die zur Chromatographie eingesetzten Glassäulen waren von Bender/Hobein, München (innerer Durchmesser 11 mm, Fritte mit 40 - 90 μ m Porenweite).

Pro Säule wurden über Nacht bei 4° C 14 g Sephadex LH 20 in 60 ml Laufmittel (Dichlormethan : Methanol = 98 : 2) zur Quellung gebracht und anschliessend bis zu einer Gelbetthöhe von 60 cm in die Säulen eingefüllt.

Die Antikörper (AK) für den Radioimmunoassay wurden freundlicherweise von Professor Dr. Vescei, Heidelberg, zur Verfügung gestellt, der sie durch Immunisierung von Kaninchen und Schafen gewonnen hatte.

Aldosteron-AK: 29/2 (Schaf)

Corticosteron-AK: B19/109 (Kaninchen)

2.3 Durchführung der Bestimmungen

Die Osmolalität des Urins wurde mit dem Roebling-Osmometer (Standard 300 mosmol) bestimmt.

Die Messung der Natrium- und Kaliumkonzentration im Urin erfolgte mit dem Flame Photometer 543 von Instrumentation Laboratory, die Bestimmung des Urin-pH im Beckman-Digital-pH-Meter 3560 mit Beckman-pH-Glas-Elektrode (Puffer 7,0 und 10,0 bei 22° C).

Die Chloridkonzentration im Urin wurde mit dem Eppendorf-Chloridmeter 6610 (Standard 98,5 - 101,5 mmol) gemessen.

Die Messung der Beta-Strahlung des Tritiums erfolgte in einem Flüssigkeitsszintillationszähler (Beckman Liquid Scintillation LS 8100). Als Szintillationsflüssigkeit wurde Toluol-Szintillator (Quickzint 212 von Zinsser) verwendet, in dem sich der wässrige Überstand homogen verteilte.

Die Bestimmung von Aldosteron und Corticosteron erfolgte aus dem Blutplasma und wurde im wesentlichen nach den Angaben von Vescei und Gless (21) durchgeführt.

Die Blutgewinnung durch Dekapitieren der Versuchstiere ohne Narkose erfolgte unter Berücksichtigung des circadianen Rhythmus der NNR-Hormone (9, 10) jeweils zwischen 14 und 15 Uhr in heparinisierte Zentrifugengläser. Das Plasma wurde unmittelbar nach Zentrifugation bei $2700 \text{ m} \cdot \text{sec}^{-2}$ durch Pipettieren abgetrennt und bis zur späteren Bestimmung in 0,75 ml-Portionen bei - 60° C eingefroren. Nach Auftauen bei Zimmertemperatur wurden jeder Probe ca. 4000 cpm Corticosteron und ca. 2000 cpm Aldosteron in jeweils 0,2 ml Beriglobinpuffer zugegeben, schonend geschüttelt und bei 4° C für 2 Stunden inkubiert. Die jeweiligen Wiederfindungsansätze wurden direkt in

Szintillationsfläschchen pipettiert, Szintillator zugegeben und im Flüssigkeitsszintillationszähler als interner Standard gezählt.

Die inkubierten Ansätze wurden mit je 10 ml Dichlormethan versetzt und 15 min. im Drehschüttler extrahiert. Die $\text{CH}_2\text{-Cl}_2$ -Phase wurde mit einer modifizierten Pasteur-pipette abgehebert und mit 3 ml H_2O gewaschen. Die gewaschene $\text{CH}_2\text{-Cl}_2$ -Phase wurde dann im 40° -Wasserbad unter nachgereinigtem Stickstoff abgedampft. Der Rückstand wurde mit 0,4 ml (+ 0,1 ml "Spülung") Laufmittel in eine 1 ml Tuberkulin-Spritze aufgenommen und auf die laufende Säule gebracht.

Chromatographiert wurde bei einer Temperatur von 4°C mit einer Laufmittelfliessgeschwindigkeit von ca. $2 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$. In Vorversuchen erfolgte die Lokalisation von Aldosteron und Corticosteron im Laufmitteleluat, gesammelt wurden 25 Fraktionen à 4 ml.

Aus den Fraktionen mit den höchsten Aldosteron- bzw. Corticosteronkonzentrationen wurden entsprechende Anteile entnommen und im Flüssigkeitsszintillationszähler gezählt. Nach dieser Feinlokalisierung wurden die ermittelten Fraktionen vereinigt und das Laufmittel im 40° -Wasserbad unter N_2 abgedampft. Der Rückstand wurde mit 1,0 ml Aethanol wieder aufgenommen und bei 4°C für den späteren RIA aufbewahrt.

8.4 Radioimmunoassay (RIA)

Der im folgenden beschriebene RIA entspricht im wesentlichen der von Vescei und Gless (21) angegebenen Methode.

Für Corticosteron fanden folgende Eichreihenwerte Verwendung: Standard, 0,50, 100, 200, 400, 800 und 1600 pg. $0,1 \text{ ml}^{-1}$ Aethanol, für Aldosteron: Standard, 0,25, 50, 100, 200 und 400 pg. $0,1 \text{ ml}^{-1}$ Aethanol.

Je nach erwarteter Konzentration des zu bestimmenden Steroids wurden von den chromatographierten Proben definierte Mengen (Corticosteron 0,05 ml, Aldosteron 0,75 ml), jeweils als Parallelbestimmung in Polyäthylenfläschchen pipettiert und im Wasserstrahlvakuum bei 40°C eingengt. Dann wurden 0,1 ml des jeweiligen ^3H -Steroids, in Beriglobin-Puffer gelöst und auf ca. 10^5 cpm eingestellt, zugesetzt.

Nun erfolgte die Zugabe von 0,5 ml Antikörper (AK), der im Titer so eingestellt wurde, dass 50 % der eingesetzten Aktivität an den AK gebunden war. Dies ergab die günstigsten Bedingungen für die Eichkurven der Steroid-AK-Reaktionen. Die Ansätze wurden schonend geschüttelt und bei 37°C für 20 min. im Schüttelbad inkubiert. Die nachfolgende Inkubation im 4° -Wasserbad wurde nach 2 Stunden gestoppt durch Zugabe von 0,1 ml Dextran-Aktivkohle-Suspension (2,5 % Norit A von Serva und 0,25 % Dextran T 70 von Pharmacia in Beriglobin-Puffer). Nach 15 min. bei 4°C wurde 15 min. bei 2700 m. sec.⁻² und 4°C zentrifugiert. Das im Überstand an den Antikörper gebundene Steroid wurde in Szintillationsfläschchen (Polyäthylenfläschchen von Zinsser) dekantiert, 10 ml Toluol-Szintillator zugegeben und im Flüssigkeitsszintillationszähler gezählt.

Die Zählraten der Eichreihen wurden in einem Computerprogramm (17) unter Korrektur der Wiederfindungsrate sowie der Teilungsfaktoren und eingesetzter Plasmamengen berechnet.

2.5 Kritik der Methode

Das Volumen der aus dem Vollblut entnommenen Proben wurde auf 1 ml festgelegt, bei kleineren Volumina liessen sich nach dem Auftauen wegen der entstandenen Fibrinkoagel keine 0,75 ml Plasma mehr abpipettieren. 0,75 ml erforderten die unteren Nachweisgrenzen der Steroide (s. u.). Grössere Volumina hätten die Wiederholungen von Doppelbestimmungen nicht erlaubt.

Die Wiederfindungsrate des internen radioaktiven Standards nach Extraktion und Chromatographie betrug für Corticosteron $61,4 \pm 8,8 \%$ und für Aldosteron $48,7 \pm 7,6 \%$. Hormonbestimmungen mit Wiederfindungsraten für Corticosteron $< 40 \%$ und/oder Aldosteron $< 30 \%$ wurden bei der Auswertung nicht berücksichtigt.

Die untere Nachweisgrenze für Aldosteron und Corticosteron wurde mit Proben ermittelt, bei denen die Hormonbestimmungen nicht aus hormonhaltigem Plasma, sondern aus 750 μ l Aqua dest. (sog. Leerwert) erfolgte. Definiert wurde die untere Nachweisgrenze als Mittelwert der Leerproben plus zweifacher Standardabweichung ($\bar{x} + 2 \text{ SD}$). Für Corticosteron lag die untere Nachweisgrenze bei $1,1 \text{ ng.ml}^{-1}$ und für Aldosteron bei $20,4 \text{ pg.ml}^{-1}$.

Die Spezifität eines Antiserums für den RIA wird durch Kreuzreaktionen gekennzeichnet. Die für den Corticosteron-AK ermittelte Kreuzreaktion mit Aldosteron betrug 0,36 %. Der Aldosteron-AK wies Kreuzreaktionen auf mit Corticosteron von 0,28 % und mit Testosteron von 0,012 %. Die Konzentration von Corticosteron gegenüber Aldosteron lag zwar um den Faktor 10^3 höher, jedoch wurden Kreuzreaktionen durch überlappungsfreie chromatographische Trennung vermieden.

Die Wirkungsweise der zur Trennung von freiem und AK-gebundenem Steroid verwendeten Aktivkohle-Dextran-Suspension ist noch umstritten (4,21). Die einfachste Vorstellung betrachtet die Aktivkohle als Molekularsieb, so dass kleine Moleküle wie das freie Steroid adsorbiert werden, grössere Moleküle wie der Steroid-AK-Komplex in Lösung bleiben. Die Dextranmoleküle besetzen dabei offensichtlich die zu grossen Poren des Aktivkohle-Molekularsiebs.

Vescei und Gless (21) erhielten für die Bindung der Steroide an die Aktivkohle die besten Ergebnisse bei 4° C. Ausserdem erwies es sich als erforderlich, bei dieser Temperatur auch zu zentrifugieren, da es sonst zu erheblicher Redissoziation des adsorbierten Steroids kommt (4,21).

Die günstigsten Eichkurven resultierten bei einer Inkubationszeit und -temperatur von 20 min. bei 37⁰ C und anschliessend 2 Stunden bei 4⁰ C (4,5,16,21). Abb. 1 zeigt eine typische Eichkurve für die radioimmunologische Bestimmung des Aldosterons in linearem Maßstab. Bei den Bestimmungen wurde durch entsprechende Probenverdünnung angestrebt, dass die gemessenen Werte im steilen Bereich der Kurve lagen.

Die Titer, d. h. die Verdünnung der verwendeten Antisera, die 50 % der gegebenen Radioaktivität zu binden vermochten, betrug für Corticosteron 1 : 12500, für Aldosteron 1 : 25000.

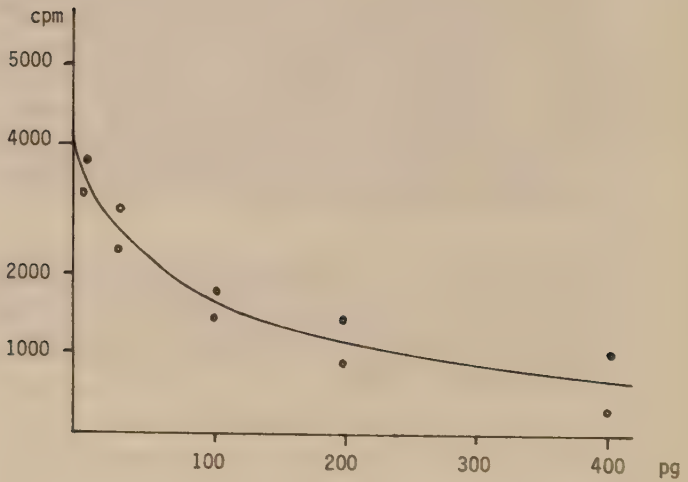


Abb. 1

Typische Eichkurve für die radioimmunologische Bestimmung des Aldosterons in linearem Maßstab.

Ordinate: Zählrate in cpm

Abszisse: Menge des zugesetzten Aldosterons in pg

2.6 Statistische Auswertung der Ergebnisse

Die Auswertung der gemessenen Werte erfolgte mit Student's t-Test für verbundene (zweiseitig) und unverbundene Stichproben.

Die Nullhypothese wurde verworfen, wenn $2p$ bzw. $p < 0,05$.

Bei den angegebenen Zahlenwerten handelt es sich immer um $\bar{x} \pm \text{SEM}$.

3. Ergebnisse

3.1 Aldosteron und Corticosteron (Plasma)

Stündliche, subcutane Nikotininjektionen über einen Zeitraum von 12 Stunden führten zu signifikant verminderten Aldosteron-Plasmakonzentrationen (710 ± 40 bzw. 560 ± 30 pg.ml^{-1} , $\bar{x} \pm \text{SEM}$, $p < 0,005$).

Im Gegensatz dazu blieben die Corticosteronwerte unverändert (Tabelle 1).

Erwartungsgemäss zeigte sich nach Behandlung mit Decadron-phosphat (2 x wöchentlich, mindestens 4 Wochen) sowohl bei Kontroll- als auch Versuchsgruppe eine fast vollständige Hemmung der Corticosteronsekretion.

Dagegen führte die Nikotingabe auch unter ACTH-Suppression zu einer signifikanten Abnahme der Aldosteron-Plasmakonzentration (von 450 ± 50 auf 320 ± 40 pg.ml^{-1} , $\bar{x} \pm \text{SEM}$, $p < 0,05$).

Dabei ist zu berücksichtigen, dass es nach Decadron allein bereits zu einer signifikanten Verminderung der Aldosteronkonzentration kam (Abb. 2):

Sowohl im Vergleich der beiden Gruppen ohne Nikotin (NaCl-Gruppe 710 ± 40 gegenüber der Decadron + NaCl-Gruppe 450 ± 50 pg.ml^{-1} , $p < 0,0025$) als auch der Nikotin-Gruppen (Nikotin 560 ± 30 gegenüber Decadron + Nikotin 320 ± 40 pg.ml^{-1} , $p < 0,005$) war ein signifikanter Abfall der Aldosteron-Plasmakonzentration zu beobachten.

Versuchsgruppe	Aldosteron (pg.ml ⁻¹ Plasma)	Corticosteron (ng.ml ⁻¹ Plasma)
Gruppe 1 (Nikotin)	560 $\pm$ 30	150 $\pm$ 10
Gruppe 2 (NaCl)	710 $\pm$ 40	130 $\pm$ 20
Gruppe 3 (Decadron + Nikotin)	320 $\pm$ 40	< 5
Gruppe 4 (Decadron + NaCl)	450 $\pm$ 50	< 5

Tabelle 1

Plasmakonzentrationen von Aldosteron und Corticosteron
($\bar{x} \pm \text{SEM}$)

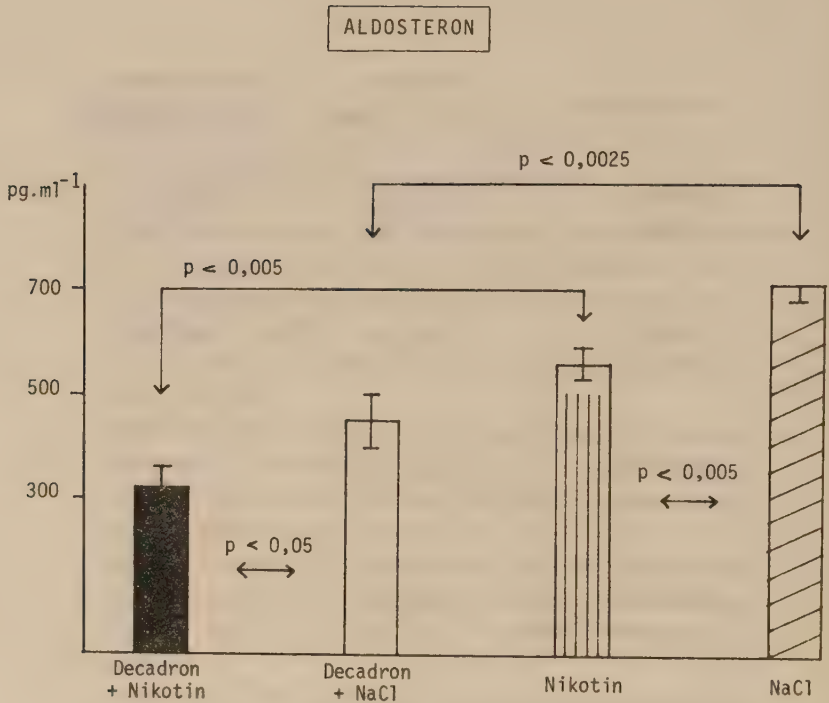


Abb. 2

Aldosteronkonzentration ($\bar{x} \pm \text{SEM}$) im Plasma von Ratten nach stündlicher, subcutaner Injektion von NaCl, Nikotin, Decadron + NaCl und Decadron + Nikotin über einen Zeitraum von 12 Stunden

3. Elektrolyte und Osmolalität (Urin)

Vergleicht man Osmolalität des Urins bzw. Elektrolytkonzentrationen im Urin der einzelnen Gruppen untereinander, so zeigt sich weder bei der Osmolalität noch bei Natrium- und Chloridkonzentration eine signifikante Veränderung (Tabelle 2 und 3).

Dagegen bewirkte Nikotin sowohl bei den mit Decadron behandelten, als auch bei den nicht ACTH-supprimierten Tieren eine signifikante Verminderung der Kaliumausscheidung von 304 ± 30 auf $204 \pm 23 \text{ mmol.l}^{-1}$ (Decadron) bzw. von 387 ± 23 auf $300 \pm 29 \text{ mmol.l}^{-1}$, $\bar{x} \pm \text{SEM}$).

Ausserdem führte die Behandlung mit Decadronphosphat, verglichen mit der NaCl- ($387 \pm 23 \text{ mmol.l}^{-1}$) bzw. Nikotin-Gruppe ($300 \pm 29 \text{ mmol.l}^{-1}$) in beiden Fällen zu signifikant erniedrigten Kaliumkonzentrationen im Urin (304 ± 30 bzw. $204 \pm 23 \text{ mmol.l}^{-1}$, Abb. 3).

Signifikante Veränderungen der Osmolalität und der Elektrolytkonzentrationen ergaben sich auch im Vergleich der Gruppen unter Versuchsbedingungen gegenüber den Selbstkontrollen, d. h. Haltung der Tiere in Stoffwechselkäfigen ohne Injektionen. Hier ist interessant, dass die beobachteten Veränderungen in den jeweiligen Gruppen alle gleichsinnig verliefen (Abb. 4 und 5): So hatten die Versuchsbedingungen in der NaCl-Gruppe eine signifikante Verminderung der Osmolalität (von 2216 ± 123 auf $1936 \pm 127 \text{ mosmol.kg}^{-1}$) und der Kaliumkonzentration im Urin (von 439 ± 23 auf $387 \pm 23 \text{ mmol.l}^{-1}$, $\bar{x} \pm \text{SEM}$) zur Folge.

Auch in der Nikotin-Gruppe fielen die Werte für Osmolalität (von 2574 ± 87 auf $1770 \pm 135 \text{ mosmol.kg}^{-1}$), Kalium- (von

474 $\pm$ 27 auf 300 $\pm$ 29 mmol.l⁻¹, $p < 0,0025$) und Chloridkonzentration (von 228 $\pm$ 21 auf 163 $\pm$ 14 mmol.l⁻¹, $p < 0,0005$) durch die Versuchsbedingungen signifikant ab.

Ein signifikanter Anstieg der Natrium- bzw. Chloridkonzentration von 150 $\pm$ 7 auf 194 $\pm$ 16 mmol.l⁻¹ ($p < 0,025$) bzw. von 158 $\pm$ 10 auf 241 $\pm$ 19 mmol.l⁻¹ ($p < 0,025$) war dagegen in der Decadron + NaCl-Gruppe durch die Versuchsbedingungen zu verzeichnen.

In der Decadron + Nicotin-Gruppe bewirkten die Versuchsbedingungen signifikant höhere Werte für Osmolalität (1524 $\pm$ 50 bzw. 1775 $\pm$ 20 mosmol.kg⁻¹) sowie Kalium- (88 $\pm$ 4 bzw. 204 $\pm$ 23 mmol.l⁻¹, $p < 0,005$) und Natriumkonzentration (55 $\pm$ 3 bzw. 204 $\pm$ 56 mmol.l⁻¹, $p < 0,005$).

Versuchsgruppe	Natrium (mmol.l ⁻¹)	Kalium (mmol.l ⁻¹)
NaCl _V	168 $\pm$ 11	387 $\pm$ 23
Nikotin _V	208 $\pm$ 24	300 $\pm$ 29
Decadron + NaCl _V	194 $\pm$ 16	304 $\pm$ 30
Decadron + Nikotin _V	204 $\pm$ 56	204 $\pm$ 23
NaCl _{SK}	191 $\pm$ 15	439 $\pm$ 23
Nikotin _{SK}	193 $\pm$ 12	474 $\pm$ 27
Decadron + NaCl _{SK}	150 $\pm$ 7	295 $\pm$ 12
Decadron + Nikotin _{SK}	55 $\pm$ 3	88 $\pm$ 4

Tabelle 2

Konzentration von Kalium und Natrium im Urin, ($\bar{x} \pm \text{SEM}$)

V = Versuchsbedingungen

SK = Selbstkontrolle

Versuchsgruppe	Chlorid (mmol.l ⁻¹)	Osmolalität (mosmol.kg ⁻¹)
NaCl _V	205 ± 18	1936 ± 127
Nikotin _V	163 ± 14	1770 ± 135
Decadron + NaCl _V	241 ± 19	2095 ± 182
Decadron + Nikotin _V	161 ± 15	1775 ± 120
NaCl _{SK}	226 ± 15	2216 ± 123
Nikotin _{SK}	228 ± 21	2574 ± 87
Decadron + NaCl _{SK}	158 ± 10	1920 ± 58
Decadron + Nikotin _{SK}	142 ± 13	1524 ± 50

Tabelle 3

Chloridkonzentration und Osmolalität des Urins, ($\bar{x}$ ± SEM)

V = Versuchsbedingungen

SK = Selbstkontrolle

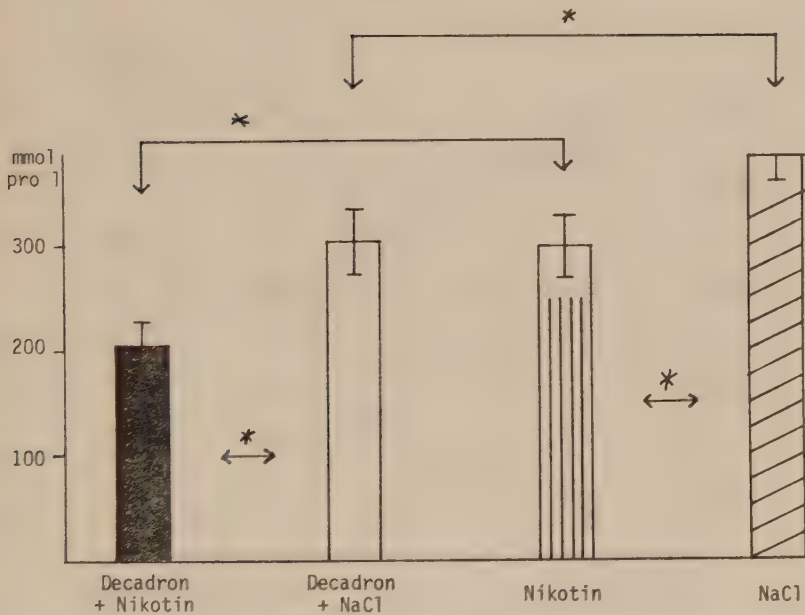


Abb. 3

Kaliumkonzentration ($\bar{x} \pm \text{SEM}$) im Urin von Ratten nach stündlicher, subcutaner Injektion von NaCl, Nikotin, Decadron + NaCl und Decadron + Nikotin über einen Zeitraum von 12 Stunden.

Signifikante Unterschiede sind mit * gekennzeichnet.

KAL I U M

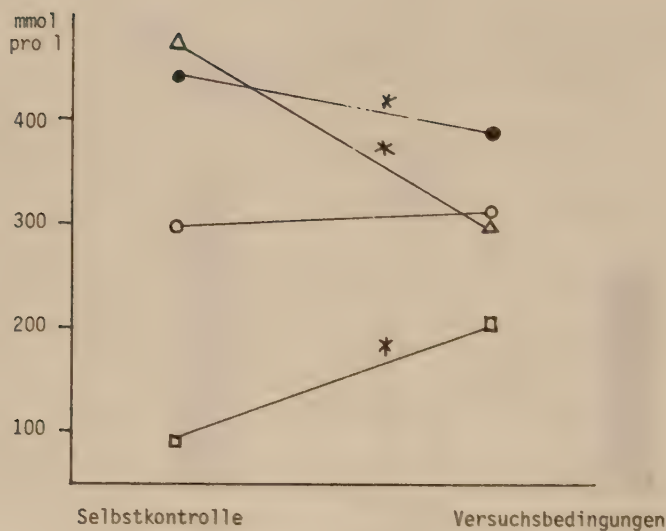


Abb. 4

Veränderung der Kaliumkonzentration im Urin von Ratten durch die Versuchsbedingungen (stündliche, subcutane Injektion von ●—● NaCl, ▲—▲ Nikotin, ○—○ Decadron + NaCl und □—□ Decadron + Nikotin über einen Zeitraum von 12 Stunden) gegenüber der Selbstkontrolle (Haltung der Tiere ohne Injektion).

Signifikante Veränderungen sind mit * gekennzeichnet.

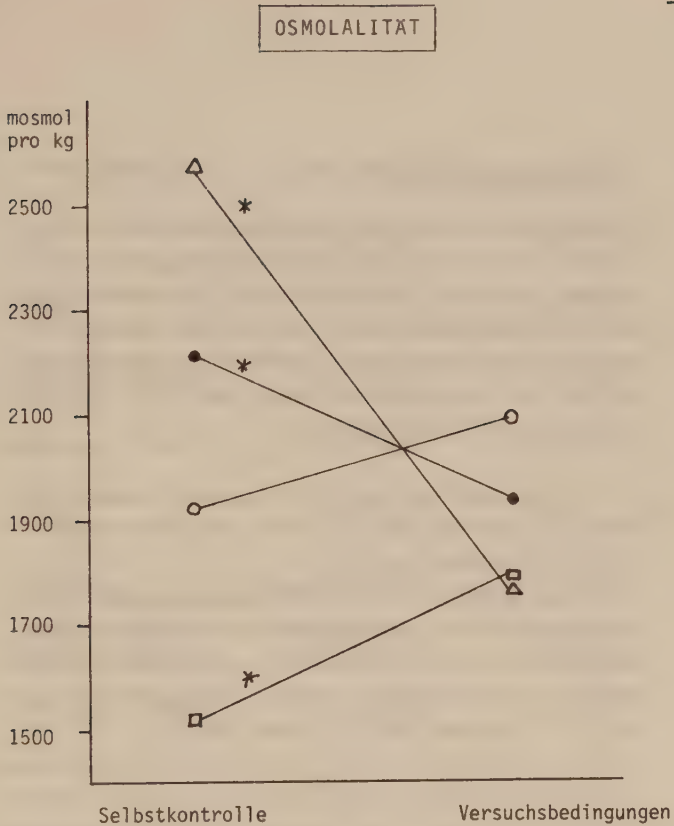


Abb. 5

Veränderung der Urin-Osmolalität bei Ratten durch die Versuchsbedingungen (stündliche, subcutane Injektion von ●—● NaCl, ▲—▲ Nikotin, ○—○ Decadron + NaCl und □—□ Decadron + Nikotin über einen Zeitraum von 12 Stunden) gegenüber der Selbstkontrolle (Haltung der Tiere ohne Injektion).

Signifikante Veränderungen sind mit * gekennzeichnet.

3.3 Urinvolumen und -pH

Im Vergleich der einzelnen Versuchsgruppen untereinander ergaben sich keine signifikanten Veränderungen des Urinvolumens. Nur in der Gegenüberstellung von Selbstkontrolle und Versuchsbedingungen der Decadron + NaCl-Gruppe fiel durch die Versuchsbedingungen das mittlere Urinvolumen pro 100 mg KG und 12 Stunden signifikant von $1,51 \pm 0,08$ ml auf $1,04 \pm 0,12$ ml ab (Tabelle 4).

Die Nikotininjektionen bewirkten gegenüber isotoner NaCl-Lösung eine signifikante Verminderung des Urin-pH von $8,90 \pm 0,10$ auf $8,58 \pm 0,11$.

Ausserdem führten die Versuchsbedingungen gegenüber den Selbstkontrollen in allen Gruppen zu signifikanten Veränderungen des Urin-pH: In der NaCl- bzw. Decadron + Nikotin-Gruppe war das pH des Urins durch die Versuchsbedingungen von $8,19 \pm 0,20$ auf $8,90 \pm 0,10$ bzw. von $8,01 \pm 0,12$ auf $8,57 \pm 0,14$ ($\bar{x} \pm \text{SEM}$) erhöht, in den anderen beiden Gruppen, Nikotin- bzw. Decadron + NaCl-Gruppe, von $9,21 \pm 0,10$ auf $8,58 \pm 0,11$ bzw. von $9,06 \pm 0,06$ auf $8,81 \pm 0,10$ erniedrigt (Abb. 6).

Versuchsgruppe	Urinvolumen (ml)	Urin-pH
NaCl _V	1,46 $\pm$ 0,22	8,90 $\pm$ 0,10
Nikotin _V	1,11 $\pm$ 0,18	8,58 $\pm$ 0,11
Decadron + NaCl _V	1,04 $\pm$ 0,12	8,81 $\pm$ 0,10
Decadron + Nikotin _V	1,40 $\pm$ 0,23	8,57 $\pm$ 0,14
NaCl _{SK}	1,81 $\pm$ 0,19	8,19 $\pm$ 0,20
Nikotin _{SK}	1,07 $\pm$ 0,16	9,21 $\pm$ 0,10
Decadron + NaCl _{SK}	1,51 $\pm$ 0,08	9,06 $\pm$ 0,06
Decadron + Nikotin _{SK}	1,69 $\pm$ 0,16	8,01 $\pm$ 0,12

Tabelle 4

Urin-pH und Urinvolumen (ml pro 100 g KG und 12 Stunden,
 $\bar{x} \pm \text{SEM}$)

V = Versuchsbedingungen

SK = Selbstkontrolle

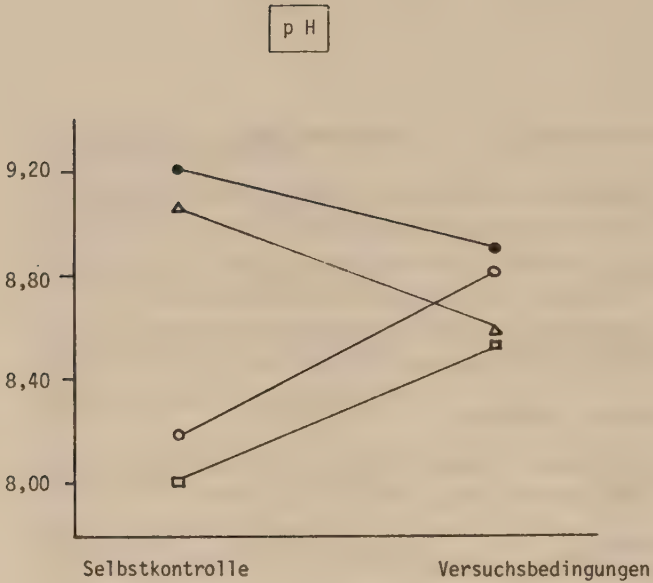


Abb. 6

Veränderung des Urin-pH bei Ratten durch die Versuchsbedingungen (stündliche, subcutane Injektion von ●—● NaCl, ▲—▲ Nikotin, ○—○ Decadron + NaCl und □—□ Decadron + Nikotin über einen Zeitraum von 12 Stunden) gegenüber der Selbstkontrolle (Haltung der Tiere ohne Injektion).

Veränderungen in allen 4 Gruppen signifikant.

...4 Aufgenommenes Wasser und Futter

Gegenüber der NaCl-Gruppe ($0,57 \pm 0,05$ ml) nahmen die Tiere sowohl durch die Behandlung mit Decadronphosphat ($0,18 \pm 0,04$ ml) als auch durch die Injektion von Nikotin ($0,19 \pm 0,03$ ml) signifikant weniger Wasser auf (Tabelle 5).

Der Vergleich Selbstkontrolle - Versuchsbedingungen brachte in allen vier Gruppen eine signifikante Abnahme des aufgenommenen Wassers (Abb. 7).

Die Versuchsbedingungen führten gegenüber den injektionsfreien Selbstkontrollen in allen vier Gruppen zu einer signifikanten Verminderung der Futteraufnahme (Abb. 8).

Der gleiche Trend war im Vergleich der einzelnen Gruppen untereinander zu beobachten: Gegenüber der Injektion von isotoner NaCl-Lösung ($0,35 \pm 0,03$ g) ergab sowohl die Behandlung mit Decadronphosphat ($0,20 \pm 0,02$ g) als auch mit Nikotin ($0,21 \pm 0,04$ g) eine signifikante Abnahme des aufgenommenen Futters.

Auch die Decadron + Nikotin-Gruppe ($0,09 \pm 0,01$ g) nahm gegenüber der Nikotin- ($0,21 \pm 0,04$ g) bzw. Decadron + NaCl-Gruppe ($0,20 \pm 0,02$ g) signifikant weniger Futter zu sich (Abb. 9).

Versuchsgruppe	Futter (g)	Wasser (g)
NaCl _V	0,35 $\pm$ 0,03	0,57 $\pm$ 0,05
Nikotin _V	0,21 $\pm$ 0,04	0,19 $\pm$ 0,03
Decadron + NaCl _V	0,20 $\pm$ 0,02	0,18 $\pm$ 0,04
Decadron + Nikotin _V	0,09 $\pm$ 0,01	0,18 $\pm$ 0,03
NaCl _{SK}	0,71 $\pm$ 0,01	0,88 $\pm$ 0,02
Nikotin _{SK}	0,62 $\pm$ 0,01	0,77 $\pm$ 0,02
Decadron + NaCl _{SK}	0,51 $\pm$ 0,01	0,61 $\pm$ 0,02
Decadron + Nikotin _{SK}	0,54 $\pm$ 0,02	0,60 $\pm$ 0,02

Tabelle 5

Aufgenommenes Futter und Wasser pro 100 g KG und
12 Stunden, ($\bar{x} \pm \text{SEM}$)

V = Versuchsbedingungen

SK = Selbstkontrolle

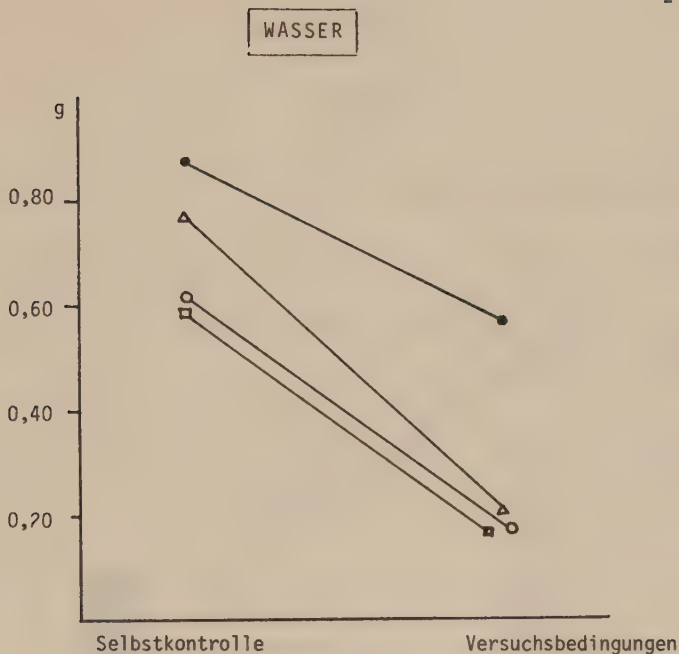


Abb. 7

Abnahme des von den Ratten pro 100 g KG und 12 Stunden aufgenommenen Wassers durch die Versuchsbedingungen (stündliche, subcutane Injektion von ●—● NaCl, ▲—▲ Nikotin, ○—○ Decadron + NaCl und ◻—◻ Decadron + Nikotin) gegenüber der Selbstkontrolle (Haltung der Tiere ohne Injektion).

Abnahme in allen 4 Gruppen signifikant.



Abb. 8

Abnahme des von den Ratten pro 100 g KG und 12 Stunden aufgenommenen Futters durch die Versuchsbedingungen (stündliche, subcutane Injektion von ●—● NaCl, △—△ Nikotin, ○—○ Decadron + NaCl und □—□ Decadron + Nikotin) gegenüber der Selbstkontrolle (Haltung der Tiere ohne Injektion).

Abnahme in allen 4 Gruppen signifikant.

FUTTER



Abb. 9

Von den Ratten pro 100 g KG und 12 Stunden aufgenommenes Futter nach stündlicher, subcutaner Injektion von NaCl, Nikotin, Decadron + NaCl und Decadron + Nikotin.

Signifikante Unterschiede sind mit * gekennzeichnet.

4. Diskussion

Die vorliegenden Untersuchungen zeigen, dass stündliche, subcutane Nikotingaben ($0,5 \text{ mg.kg}^{-1}$) über einen Zeitraum von 12 Stunden die Plasmakonzentration des Corticosterons bei Ratten nicht signifikant verändern.

Im Gegensatz dazu sahen Kershbaum *et al.* (12) 30 min. nach i.p.-Injektion von $0,5 \text{ mg.kg}^{-1}$ Nikotinbitartrat einen signifikanten Anstieg der 11-Hydroxycorticosteroide im Plasma von Ratten. Diese adrenocorticale Stimulierung war jedoch nach einer Stunde vollständig abgeklungen und wurde auf einen Anstieg der sympathischen Aktivität zurückgeführt.

Auch Balfour *et al.* (3) fanden nach subcutaner Verabreichung von Nikotin ($0,4 \text{ mg.kg}^{-1}$) bei nicht gestressten Ratten einen Anstieg des Plasma-Corticosterons, der ebenfalls nur 60 min. anhielt. Bei gestressten Tieren beeinflusste das Nikotin die stressbedingte hohe Plasmakonzentration des Corticosterons nicht mehr. Damit befinden sich Balfour *et al.* (3) allerdings im Widerspruch zu Hall und Morrison (7), die über eine nikotinbedingte Abnahme des Corticosterons im Plasma von gestressten Ratten berichten.

In diesem Zusammenhang wird deutlich, dass der Faktor Zeit eine wesentliche Rolle spielt. Altland *et al.* (2), die Ratten 4 Stunden lang stündlich verschiedenen hohen Nikotindosen i.p. injizierten bzw. abgestuften Konzentrationen von Zigarettenrauch aussetzten, konnten nämlich keine Veränderungen der Corticosteron-Plasmakonzentration feststellen. Die Änderungen anderer untersuchter Parameter deuteten sie daher nicht im Sinne einer Stressantwort.

Seifert *et al.* (19), die den Zeitraum der Berauchung bzw. Nikotingaben auf mehrere Wochen ausdehnten, konnten keine Beeinflussung der Konzentration von Corticosteron im Plasma von Ratten erkennen.

In die Zeitabhängigkeit der Wirkung des Nikotins auf die Freisetzung von Glucocorticoiden lassen sich auch *in-vitro*-Untersuchungen von Rubin und Warner (8) einordnen. Sie konnten zeigen, dass Nikotin fähig ist, nach 2 Stunden Inkubationszeit isolierte adrenocorticale Zell-Präparationen von Katzen direkt zur Hydrocortisonproduktion anzuregen. Darüber hinaus steigerte Nikotin *in-vitro* den steroidogenen Effekt von ACTH additiv.

Diese Ergebnisse lassen den Schluss zu, dass Nikotin die Sekretion von Glucocorticoiden zu steigern vermag, jedoch nur über einen kurzen Zeitraum von 1 - 2 Stunden. Danach entsprechen die Glucocorticoidkonzentrationen wieder der Basalsekretion.

Anders sieht es beim Hauptmineralcorticoid, dem Aldosteron, aus: Die stündlichen, subcutanen Nikotininjektionen führten hier nach 12 Stunden zu einer signifikanten Abnahme der Aldosteronkonzentration im Plasma von Ratten.

Dieses Ergebnis wurde von Seifert *et al* (19) sowohl in Kurz- als auch in Langzeitversuchen bestätigt. Sie fanden nach massiver Berauchung über 30 Stunden mit 5 Zigaretten pro Ratte und Stunde eine signifikante Verminderung der Plasmakonzentration von Aldosteron.

Entsprechendes sah Hokfelt (11) bei gewohnheitsmässigen Nichtrauchern, die nach filterlosen Zigaretten einen Abfall der Aldosteronausscheidung im Urin aufwiesen.

Auch nach subcutaner Langzeitapplikation von Nikotin (in 01 bzw. isotoner NaCl-Lösung) über 8 Wochen erhielten Seifert *et al* (19) signifikant erniedrigte Aldosteron-Konzentrationen im Plasma von Ratten. Die nach Langzeitberauchung über 4 bzw. 8 Wochen mit 6 bzw. 7,3 Zigaretten pro Tag und Ratte unver-

änderten Aldosteron-Plasma-Konzentrationen führten sie auf die wohl zu geringe Nikotinaufnahme durch die Berauchung zurück.

Nikotin vermag also nach subcutaner Verabreichung sowohl nach 12stündiger als auch nach 8wöchiger Versuchsdauer die Aldosteronkonzentration im Plasma von Ratten zu senken. Es stellt sich nun die Frage: Hemmt Nikotin die Aldosteron-Sekretion direkt oder geschieht dies über den hypothalamisch-hypophysären-NNR-Regelkreis?

Die Abklärung dieser Frage durch ACTH-Suppression mittels Decadronphosphatinjektionen zeigte interessante Ergebnisse: Allein die Behandlung mit Decadronphosphat führte neben den erwartungsgemäss fast vollständig supprimierten Corticosteron-Werten zu einer signifikanten Abnahme der Aldosteron-Plasmakonzentration. Die zusätzliche Nikotingabe bei Decadronphosphat-behandelten Tieren hatte ein noch weiteres Absinken der Aldosteronkonzentration zur Folge, wobei die Decadron-bedingte Abnahme signifikant höher ausfiel.

Betrachtet man nun den Prozentsatz der jeweils verursachten Absenkung der Aldosteron-Plasmakonzentration, so findet man eine additive Wirkung von Nikotin und Decadron auf die Hemmung der Aldosteronsekretion.

Seifert *et al* (19) stellten bei ihren Langzeitversuchen unter Decadron etwas abweichende Ergebnisse fest:

Die Langzeitberauchung mit Decadronphosphat-Behandlung über 8 Wochen ergab ebenso wie beim entsprechenden Versuch ohne ACTH-Suppression keine Veränderung der Aldosteron-Plasmakonzen-

tration. Die subcutane Langzeitapplikation von Nikotin in isotoner NaCl-Lösung über 8 Wochen unter Decadronphosphat führte zum gleichen Ergebnis.

Nur wenn das Nikotin in Öl (Depoteffekt?) verabreicht wurde, zeigte sich bei der Lanzeitapplikation unter Decadronphosphat ein Abfall der Aldosteron-Plasmakonzentration.

Die Interpretation der Abnahme der Aldosteron-Plasmakonzentration durch Decadron in der vorliegenden Größenordnung im Sinne einer ACTH-Abhängigkeit ist zwar möglich, aufgrund der ermittelten Untersuchungsergebnisse allein jedoch keinesfalls zwingend.

Die Natrium- und im wesentlichen auch die Chloridausscheidung im Urin blieb in allen Versuchsgruppen unverändert. Dies kann als Ausdruck dafür angesehen werden, dass die Aldosteron-unabhängigen Regulatoren der Natriumausscheidung durch das verabreichte Nikotin entweder weitgehend unbeeinflusst bleiben oder sich gegenseitig ausgleichen.

Dagegen war die Kaliumausscheidung im Urin ebenso wie das Aldosteron im Plasma in allen Gruppen vermindert. Befunde, die sich eigentlich (physio-) logisch miteinander in Verbindung bringen lassen, zumal auch das Urin-pH praktisch unverändert blieb. Die Möglichkeit der direkten Wirkung des Nikotins auf Kaliumsekretion und -ausscheidung muss allerdings offen gelassen werden.

Die geringere Futteraufnahme der einzelnen Gruppen gegenüber der NaCl-Gruppe könnte zwar Nikotin- bzw. Decadron-bedingt sein, jedoch deutet die durch die Versuchsbedingungen herabgesetzte Futter- und Wasseraufnahme der Selbstkontrolle aller Gruppen wohl eher auf vermindertes Wohlbefinden hin, als auf direkte Nikotin- bzw. Decadronwirkungen.

Hilfenhaus (9) hat in diesem Zusammenhang - Stress und Wohlbefinden - festgestellt, dass das Sitzen in Stoffwechselkäfigen

für Ratten keinen Stress bedeutet, nachdem er die Plasmakonzentration des Corticosterons von Tieren gemessen hat, die sowohl in normalen als auch in Stoffwechselkäfigen gehalten wurden.

Osmolalität und Volumen des ausgeschiedenen Urins blieben in allen Gruppen unverändert. Zusammen mit den bereits diskutierten Befunden zwei weitere Hinweise auf die Stabilität des weitgehend unbeeinflusst gebliebenen Elektrolyt- und Wasserhaushaltes.

Die in dieser Arbeit nachgewiesene nikotinabhängige Abnahme der Aldosteron-Plasmakonzentration bei Ratten ergibt demnach keinen Anhalt dafür, dass eine Beeinflussung bzw. pathologische Veränderung des kardiovaskulären Systems über eine nikotinbedingte Stimulierung des NaCl-retinierenden endokrinologischen Systems erfolgt.

5. Zusammenfassung

Nikotingaben ($0,5 \text{ mg.kg}^{-1} \text{ KG}$), stündlich und subcutan über einen Zeitraum von 12 Stunden verabreicht, bewirkten keine signifikante Änderung der Corticosteronkonzentration im Plasma von Ratten.

Dagegen führten sowohl Nikotin ($p < 0,005$) als auch Decadronphosphat ($p < 0,0025$) zu einer Abnahme der Aldosteron-Plasmakonzentration ($560 \pm 30 \text{ pg.ml}^{-1}$ bzw. $450 \pm 50 \text{ pg.ml}^{-1}$, $\bar{x} \pm \text{SEM}$, $n = 10$) gegenüber Kontrollratten ($710 \pm 40 \text{ pg.ml}^{-1}$). Dabei war eine additive Wirkung von Nikotin und Decadron auf die Hemmung der Aldosteronsekretion zu beobachten.

Auch im Vergleich Nikotin- gegenüber Nikotin + Decadron-behandelter Tiere ergab sich durch Decadronphosphat eine signifikante Verringerung ($p < 0,0005$) der Aldosteron-Plasmakonzentration von 560 ± 30 auf $320 \pm 40 \text{ pg.ml}^{-1}$.

Weitere untersuchte Parameter wie Elektrolytausscheidung sowie Osmolalität und Urinvolumen wurden durch Nikotin nicht wesentlich verändert.

Demnach ergibt sich aus der nachgewiesenen, nikotinabhängigen Abnahme der Aldosteron-Plasmakonzentration bei Ratten kein Anhalt dafür, dass Nikotineinwirkung über eine Stimulierung des NaCl-retinierenden endokrinologischen Systems zu einer Beeinflussung bzw. pathologischen Veränderung des kardiovaskulären Systems führt.

6. Schriftumsverzeichnis

1. Altland PD, Rattner BA, Parker MG:
Effects of Nicotine and Carbon Monoxide on Tissue and
Systemic Changes in Rats.
Environ. Res. 1979; 19: 202 - 212
2. Altland PD, Parker MG, Brubach HF:
Effects of Graded Concentrations of Cigarette Smoke
on Plasmaenzyme, Corticosterone and Body Tempera-
ture in Rats.
Environ. Res. 1978; 15: 160 - 169
3. Balfour DJK, Khullar AK, Longden A:
Effect of Nicotine on Plasma
Corticosterone and Brain Amines in Stressed and
Unstressed Rats.
Pharmac. Bioch. Beh. 1975; 3: 179 - 184
4. Binoux MA, Odell WD:
Use of Dextran-Coated Charcoal to Separate Antibody-
Bound from Free Hormone: A Critique.
J. Clin. Endocr. 1973; 36: 303
5. Ekins RP, Newman GB, Piyasena R:
The Radioimmunoassay of Aldosterone in Serum and
Urine: Theoretical and Practical Aspects.
J. Steroid Biochem. 1972; 3/ 289

6. Furuyama S, Mayes DM, Nugent CA:
A Radioimmunoassay for Plasma Testosterone.
Steroids 1970; 16: 415
7. Hall GH, Morisson CF:
New Evidence for a Relationship between Smoking,
Nicotine Dependence and Stress.
Nature 1973; 243: 199 - 201
8. Heck I, Seifert J, Schmidtmeier E,
Thurau K:
Adrenocorticale Funktion bei Ratten unter Nikotin
und Zigarettenrauchbelastung.
Wissenschaftliches Symposium des Forschungs-
rates "Rauchen und Gesundheit"; Hamburg 1978.
9. Hilfenhaus M:
Evaluation of Radioimmunoassay for Aldosterone in
Urine and Plasma of Rats.
J. Steroid Biochem. 1977; 8/ 847 - 851
10. Hilfenhaus M:
Urinary Aldosterone Excretion Rate and Plasma
Aldosterone Concentration in the Rat: Effect of
ACTH, DOC, Furosemide and of Changes in Sodium
Balance.
Acta Endocr. 1977; 85: 134 - 142
11. Hokfelt B:
The Effect of Smoking on the Production of
Adreno-Cortical Hormones.
Acta Med. Scand. 1961; Suppl. 369; 170: 123 - 124

12. Kerschbaum A, Pappajohn DJ, Bellet S,
Hirabayashi M, Shafiiha H:
Effect of Smoking and Nicotine on Adrenocortical
Secretion.
J. Am. Med. Ass. 1968; 203: 275 - 278
13. Larson PS, Silvette H:
Tobacco: Experimental and Clinical Studies.
Baltimore: Williams and Wilkins Co. 1971;
Suppl. II: 172 - 173
14. Larson PS, Haag HB, Silvette H:
Tobacco: Experimental and Clinical Studies.
Baltimore: Williams and Wilkins Co. 1961;
367 - 368
15. Mayes D, Furuyama S, Kem DC, Nugent CA:
A Radioimmunoassay for Plasma-Aldosterone.
J. Clin. Endocr. 1970; 30: 682 - 685
16. Nowaczynski W, Sasaki C, Genest J:
Radioimmunoassay for Aldosterone and Normal
Values under Various Physiological Conditions.
J. Steroid Biochem. 1974; 5: 123 - 131
17. Rodbard D, Lewald JE:
Computer Analysis of Radioligand Assay and RIA
Data.
Acta Endocr. (Kbh.) 1970; Suppl. 147: 79

18. Rubin RP, Warner W:
Nicotine-Induced Stimulation of Steroidogenesis
in Adrenocortical Cells of the Cat.
Br. J. Pharmac. 1975; 53: 357 - 362
19. Seifert J, Fischbach TM, Schmidtmeier E,
Thurau K:
Die Wirkung von Nikotin bzw. Zigarettenrauch auf
die Plasmakonzentration von Corticosteron und
Aldosteron bei Ratten.
Münch. Med. Wschr. 1980; Suppl. 1: 12
20. Suzuki T, Ikeda H, Narita S:
Adrenal Cortical Secretion in Response to Nicotine
in Conscious and Anesthetized Dogs.
Quart. J. Exp. Physiol. 1973; 58: 139 - 142
21. Vescei P, Gless KH:
Aldosteron-Radioimmunoassay
F. Enke Verlag Stuttgart 1975

L e b e n s l a u f

Tilman M. Fischbach, geb. 13.09.1948 in Friedrichshafen

Vater Ernst B. Fischbach, Technischer Leiter des Flughafens
Friedrichshafen

Mutter Lucy Fischbach, geb. Entringer, Hausfrau

Bruder Dr. R. M. Fischbach, Arzt

1955 - 1959 Pestalozzi-Grundschule in Friedrichshafen

1959 - 1961 Graf-Zeppelin-Gymnasium in Friedrichshafen

1961 - 1967 Städt. Gymnasium in Ehingen/Donau, Abitur

1967 - 1968 Wehrdienst

1968 Beginn des Studiums der Chemie an der Universität München

1968 - 1969 Ziviler Ersatzdienst im OP-Bereich des KKH Tettnang

1974 Beginn des Studiums der Medizin an der Universität München

1976	Chemie-Diplomprüfung mit einer Arbeit über den Stoffwechsel des Phenacetins, Ärztliche Vorprüfung
1976 - 1977	1 1/2 Jahre Verwalter der Dienstgeschäfte eines wissenschaftlichen Assistenten am Pharmakolog. Institut der Uni München (Direktor: Professor M. Kiese)
1978	Erster Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
1978 - 1979	Doktorand bei Professor K. Thurau am Physiolog. Institut der Uni München
1980	Zweiter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
1980 - 1981	Praktisches Jahr Klinikum Grosshadern (Innere Medizin und Chirurgie) Urolog. Abt. d. Städt. KH Thalkirchner Strasse
07.04. und 28.04.1981	Schriftlicher und mündlicher Teil des Dritten Abschnittes der Ärztlichen Prüfung
05.05.1981	Approbation

